

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 21120051302188

UDC _____

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

西太平洋蓝鳍金枪鱼和黄鳍金枪鱼的遗传
多样性及鲭科鱼类分子系统学研究

Studies on Genetic Diversity of bluefin tuna *Thunnus*
thynnus and yellowfin tuna *Thunnus albacares* in Western
Pacific and Molecular Phylogenetics in Scombridae

邱凡

指导教师姓名: 苏永全 教授

专 业 名 称: 海 洋 生 物 学

论文提交日期: 2008 年 05 月

论文答辩日期: 2008 年 06 月

学位授予日期: 2008 年 月

答辩委员会主席: 陈奕欣 教 授

评 阅 人: 吴常文 教 授

蔡泽平 研究员

2008 年 05 月

厦门大学博硕士论文摘要库

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其它个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。

2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

目录

中文摘要.....	V
英文摘要.....	VI
第一章 文献综述.....	1
1 遗传多样性及其研究方法	1
1.1 形态标记.....	2
1.2 细胞标记.....	2
1.3 生化标记.....	3
1.4 分子标记.....	3
2 分子系统学原理、应用及其方法	8
2.1 分子系统学的原理.....	8
2.2 分子系统学的应用.....	10
2.3 分子系统学研究方法.....	11
3 鲭科鱼类介绍与研究进展	17
3.1 7 种鲭科金枪鱼类生物学性状与渔业.....	18
3.2 研究概况.....	25
4 研究目的及意义	26
第二章 西太平洋蓝鳍金枪鱼和黄鳍金枪鱼的遗传多样性研究	28
1 西太平洋蓝鳍金枪鱼的遗传多样性研究	28
1.1 材料与方法.....	28
1.2 实验结果.....	31
1.3 讨论.....	35
2 西太平洋黄鳍金枪鱼的遗传多样性研究	37
2.1 材料与方法.....	37
2.2 实验结果.....	38
2.3 讨论.....	40
3 小结.....	41
第三章 鲭科鱼类的分子系统学研究.....	43

1 材料与方法	44
1.1 实验材料.....	44
1.2 药品及器材.....	44
1.3 实验方法.....	44
2 实验结果	48
2.1 序列比对整理.....	48
2.2 序列概况.....	48
2.3 构建系统进化树.....	50
3. 讨论.....	56
3.1 序列的选择.....	56
3.2 外群的选择.....	58
3.3 鲭科 31 种鱼类的分子系统进化.....	59
4 小结.....	63
5 研究展望	63
参考文献.....	65
致 谢.....	72

CONTENTS

Abstract in Chinese	V
Abstract in English.....	VI
Chapter 1 Review	1
Section 1 Genetic diversity and its research methods.....	1
1.1 Morphological marker	2
1.2 Cytological marker.....	2
1.3 Biochemical marker	3
1.4 Molecular marker.....	3
Section 2 Molecular systematics	8
2.1 Principle of molecular systematics	8
2.2 Application of molecular systematics	10
2.3 Methods of molecular systematics.....	11
Section 3 Introduction of scombridae and its research progress.....	17
3.1 Introduction of seven scombridae species	18
3.2 Research introduction	25
Section 4 Intention and significance.....	26
Chapter 2 Genetic diversity of bluefin tuna and yellowfin tuna in western Pacific	28
Section 1 Genetic diversity of bluefin tuna in western Pacific.....	28
1.1 Materials and methods	28
1.2 Results.....	31
1.3 Discussion	35
Section 2 Genetic diversity of yellowfin tuna in western Pacific	37
2.1 Materials and methods	37
2.2 Results.....	38
2.3 Discussion	40
Section 3 Conclusion	41

Chapter 3 Molecular systematics of scombridae	43
Section 1 Materials and methods.....	44
1.1 Materials.....	44
1.2 Reagent and apparatus	44
1.3 Methods.....	44
Section 2 Results.....	48
2.1 Sequences alignment.....	48
2.2 General situation of sequences.....	48
2.3 Construction of phylogenetic tree.....	50
Section 3. Discussion	56
3.1 The choice of sequences	56
3.2 The choice of outgroup	58
3.3 Molecular phylogenetic evolution of 31 species in Scombridae	59
Section 4 Conclusion	63
Section 5 Prospect of the study	63
References	65
Acknowledgements.....	72

摘 要

本文采用微卫星 (Microsatellites) 和随机扩增多态性 DNA (RAPD) 分子标记手段研究西太平洋蓝鳍金枪鱼 *Thunnus thynnus* 和黄鳍金枪鱼 *Thunnus albacares* 遗传多样性; 并首次应用 mtDNA 细胞色素 *b* 基因和核糖体转录间隔区 1 部分片段的序列分析, 对鲭科 31 种鱼类的分子系统进化进行研究, 主要结果如下:

- 1、运用 Microsatellites 和 RAPD 分子标记研究了蓝鳍金枪鱼的群体遗传多样性, 在 Microsatellites 分析中筛选出 10 个 Microsatellites 引物, 多态座位比例为 100 %、Shannon's 遗传多样性指数 1.1622、群体平均杂合度 0.6486。微卫星位点的多态信息含量 (PIC) 为 0.3571~0.8187, 平均 0.5462, 表明西太平洋蓝鳍金枪鱼的群体遗传多样性处于较高水平。RAPD 分析中 18 个引物共扩增出 96 条 0.25~2 kb 的片段, 多态位点比例 33.3%, Shannon's 遗传多样性指数为 0.2430, 均低于 Microsatellites 的分析结果。可见, 与 RAPD 相比, 高灵敏度的遗传标记微卫星能更好更完善地揭示群体的遗传多样性。
- 2、运用 Microsatellites 分子标记研究了黄鳍金枪鱼的群体遗传多样性, 10 对微卫星引物分析共检出 54 个等位基因, 平均每个位点的等位基因数为 5.40; 多态座位比例为 100 %、群体平均杂合度 0.6486。微卫星位点的多态信息含量 (PIC) 为 0.3080~0.8720, 平均 0.5637, 表明西太平洋黄鳍金枪鱼的群体遗传多样性也处于较高水平。
- 3、应用 PCR 技术扩增了 mtDNA 细胞色素 *b* 基因 1 个含 311 个碱基的序列区, 通过邻接法、最大简约法和最大似然法构建鲭科 12 属 31 个种类的分子系统树。研究结果确认了金枪鱼属处于系统进化树的顶端, 代表着最新演化的种类, 是鲭科中最繁盛的一属, 也是目前系统发育的高峰。狐鲣属和刺鲅属的系统分化地位在不同分子系统树中的结果不太一致。与传统形态分类相同, 鲣属、鲐属和舵鲣属显示与金枪鱼属很近的亲缘关系, 它们均归入金枪鱼族。在金枪鱼族的系统进化分析中, 转录间隔区 1 的研究结果基本与细胞色素 *b* 的结果一致, 仅在金枪鱼属内各个种之间的进化关系有所不同。

关键词: 遗传多样性; 鲭科; 系统进化

Abstract

Genetic diversity of the bluefin tuna *Thunnus thynnus* and the yellowfin tuna *Thunnus albacares* in western Pacific was investigated by using the molecular marking like Microsatellites and Random Amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. The molecular phylogenetic evolution of 31 species in Scombridae was estimated from cytochrome *b* (Cyt *b*) in mitochondrial DNA and internal transcribed spacer 1 (ITS1) sequences. The main results were shown as follows:

1. The genetic diversity of *T. thynnus* was investigated by Microsatellites and RAPD. Of the Microsatellites primers screened, 10 produced highly reproducible Microsatellites bands. The percentage of polymorphic, Shannon's index and the average heterozygosity were 100%, 1.1622 and 0.6486 respectively. The polymorphic information content (PIC) of polymorphic loci varied from 0.3571~0.8187, and the average PIC was 0.5462. It seemed that genetic diversity of the western Pacific bluefin tuna was at a high level. 96 RAPD bands ranging from 250~2000 bp were recorded from 18 random primers. The mean percentages of polymorphic loci (*P*) were 33.3% and the Shannon's information index was 0.2430, both of these two values were lower than those of Microsatellites analysis, indicating that, compared to RAPD, the higher sensitive genetic marker Microsatellites will better reveal population genetic diversity.

2. The genetic diversity of *T. albacares* was obtained by Microsatellites. 54 loci were detected from 10 sets of microsatellite primers, mean number of alleles per locus was 5.40. The percentage of polymorphic and the average heterozygosity were 100% and 0.6486, respectively. The polymorphic information content (PIC) of polymorphic loci varied between 0.3080~0.8720, and the average PIC was 0.5637, indicating that genetic diversity of yellowfin tuna population was at a high level.

3. A fragment with 311 bp of cytochrome *b* gene in mitochondrial DNA was

amplified from 12 Genus 31 in Scombridae. Neighbour-joining (NJ), maximum-parsimony (MP) and maximum-likelihood methods were used to reconstruct the phylogenetic trees. It was affirmed that genus *Thunnus* locates at the top of the phylogenetic tree, it is the most recently diverged species and the most flourishing genus in Scombridae nowadays. The phylogenetic case of genus *Sarda* and *Acanthocybium* was not the same in different trees. The result exhibited very close relationship among *Katsuwonus*, *Euthynnus*, *Auxis* and *Thunnus*, which was consistent with traditional opinion, suggesting that they belonged to tribe Thunnini. In the analysis of phylogenetic relationship of Thunnini species, the result of ITS1 was basically consistent with that of Cyt *b*, with dissimilarity of the phylogenetic relationship within *Thunnus* species, which was supported by former research.

Key Words: Genetic Diversity; Scombridae; Phylogenetic Evolution

厦门大学博硕士论文摘要库

第一章 文献综述

1 遗传多样性及其研究方法

当今的世界面临着人口、资源、环境、粮食与能源五大危机，这些危机的解决都与地球上的生物多样性（Bio-diversity）有着密切的关系，保护生物多样性已成为国际社会关注的热点。生物多样性是生物及其环境形成的生态复合体以及与此相关的各种生态过程的总和，它包括数以百万计的动物、植物、微生物和它们所拥有的基因以及它们与生存环境形成的复杂的生态系统。因此，生物多样性是一个内涵十分丰富的重要概念，包括四个层次：遗传多样性、物种多样性、生态系统多样性和景观多样性（马克平，1993）。其中，遗传多样性（Genetic diversity）是生物多样性的核心，是生态系统多样性和物种多样性的基础。一方面，任何物种都具有其独特的基因库和遗传组织形式，物种的多样性也就显示了基因的多样性（施立明，1990）；另一方面，物种是构成生物群落进而组成生态系统的基本单元，生态系统的多样性离不开物种的多样性，同样也离不开不同物种所具有的遗传多样性（陈灵芝，1993）。

遗传多样性是指生物圈内一切生命有机体所携带的各种遗传信息的总和，有广义和狭义之分。广义遗传多样性包括种群、个体、细胞、分子等多个水平的遗传变异；狭义遗传多样性是指不同种群之间以及个体之间的遗传变异（夏铭，1999）。

研究遗传多样性的方法是随着生物学研究层次的提高和实验手段的不断改进逐步发展起来的，从形态学水平、细胞学（染色体）水平、生理生化水平直到目前的分子水平。无论在哪个层次上研究遗传多样性，其目的都是为了揭示遗传物质的变异。迄今为止，任何一种检测遗传变异的方法都存在各自的优点和局限，还找不到一种可以完全取代其它方法的技术。因此，包括经典的形态学、细胞学、以及现代的同工酶和 DNA 技术在内，各种方法都能从各自的角度提供有价值的

信息，都有助于我们认识遗传物质的结构特点和变异情况。目前，常用的遗传标记有很多种，按照一般的观点可以分为形态标记（morphological marker），细胞标记（cytological marker），生化标记（biochemical marker）和分子标记（molecular marker）。

1.1 形态标记

形态标记（morphological marker）是指利用生物体一些常见的形态学性状（如长度、高度、重量、颜色等）对某种生物的遗传多样性进行分析。形态学性状是一些表型性状，通常利用的表型性状有两类，一是符合孟德尔遗传规律的单基因性状，包括可量性状、质量性状、稀有突变等，另一类是由多基因决定的数量性状。通过对这些表型性状进行观察、测量、计数和统计，可以检测种内或种间的遗传多样性。形态学标记是人们最早利用的遗传标记，具有取样方便、操作简单、易于分析等优点。采用严密的数量遗传学方法，就可以在短期内对所研究的物种的遗传变异有一个基本认识。但由于表型和基因型之间存在着基因表达、调控、个体发育等复杂的中间环节，如何根据表型上的差异来反映基因型上的差异就成为用形态学方法检测遗传变异的关键。而且由于可利用的形态学标记数量有限，表型特征受环境影响较大，所以只用形态学方法不能客观的度量遗传变异的大小（夏铭，1999）。

1.2 细胞标记

细胞遗传学的研究发现，染色体数目的变化如单体，三倍体和结构的变化如缺失，重复，倒位，易位等，常常引起表型性状的变异。因此染色体的变化可以作为一种遗传标记，用于测定基因所在的染色体和位置。鱼类细胞遗传学中的研究显示鱼类拥有一些特殊的核型特征（Andreata *et al.*, 1993），均表现了鱼类在染色体水平上的多态性。近几年，由细胞学方法和分子杂交技术相结合发展起来的荧光原位杂交技术（fluorescence in situ hybridization, FISH），使得染色体变异的研究有了重大突破（邱芳等，1998；权洁霞和戴继勋，1999）。染色体变异研究对于研究生物系统分类、起源与进化有重要意义，它克服了形态标记易受环境影响的缺点（Andreata *et al.*, 1993）。目前已报道染色体的鱼类已达 2000 种左右（耿

德贵等, 1999), 绝大部分为淡水种类, 受取样等原因影响海水鱼类研究很少, 牛文涛 (2006) 统计仅报道 76 种, 约占海水鱼类总数的 2.4%, 多为鲈形目 Perciformes、鲉形目 Scorpaeniformes 和鲽形目 Pleuronectiformes 的重要经济鱼类。

但是, 细胞标记的研究需要大量的人力和时间, 并且有些物种对染色体数目和结构变异反应敏感, 或适应此种变异的能力较差, 难以获得标记材料, 从而限制了细胞学标记的应用。

1.3 生化标记

生化标记 (biochemical marker) 是利用电泳等技术对生物大分子, 如蛋白质、酶等进行鉴定。蛋白质是由基因编码的, 特定的基因型决定了蛋白质的特定组成, 因此, 不同种属所特有的蛋白质组成能够反映该种属的基因型。生化标记主要是指同工酶技术, 利用聚丙烯酰胺凝胶电泳和特异性染色反应, 通过检测 DNA 表达产物电泳谱带的不同来显示同工酶在遗传学上的多态性。同工酶作为共显性标记, 可以揭示基因的序列以及功能的差异。现在已有几十种同工酶系统, 例如酯酶同工酶, 过氧化物同工酶等同工酶标记, 已被广泛用于建立遗传图谱种群分析等研究中 (Staub *et al.*, 1996)。但由于同工酶只能检测编码酶蛋白的基因位点, 对非编码基因则无法检测, 同时它只能检测出导致同工酶中氨基酸组成发生变化的核苷酸突变, 一些隐蔽的变异有时不能通过电泳检测到, 而且同工酶是基因表达的产物而非基因本身, 在翻译后还可能会被加工, 其活性也经常受到环境及发育状态的影响, 所以其应用在很大程度上受到了限制。

1.4 分子标记

分子标记 (molecular marker) 是继形态标记, 细胞标记, 生化标记之后的一种新的遗传标记方法, 它是以 DNA 多态性与性状间的紧密连锁关系为基础的遗传标记。DNA 分子标记是由于缺失、插入、易位、倒位、重排或由于存在长短与排列不一的重复序列等机制而产生的多态性。其本质上是指能反映生物个体或种群间基因组中某种差异特征的 DNA 片段。这种 DNA 片段是基因组 DNA 经限制性内切酶切割, 或作分子杂交后在电泳胶上或检测得到的。分子标记与形态标记、细胞标记、同工酶标记相比, 其优越性在于: 它们对表型无影响, 大多数分

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库